

1H-NMRスペクトルの一次解析のための支援プログラム(2)

著者	傘 孝之
雑誌名	日本歯科大学紀要．一般教育系
巻	29
ページ	107-116
発行年	2000-03-20
URL	http://doi.org/10.14983/00000520



^1H -NMR スペクトルの一次解析のための 支援プログラム 2

A Program for Assisting in First Order Analysis of
 ^1H -NMR Spectrum 2

歯学部 傘 孝 之

Takayuki KARAKASA

The Nippon Dental University
Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8159
JAPAN

(1999 年 11 月 30 日 受理)

^1H -NMR スペクトルにおいてケミカルシフトやカップリング定数を正確に読み取することは、有機化合物の立体構造を知るために非常に重要な作業である。ABC 型や ABX 型の様に高次のスペクトルパターンを与える ^1H -NMR スペクトルの場合には、直接チャートから正確なケミカルシフトやカップリング定数を読み取ることができないため、通常シミュレーションプログラムの助けを借りて解析を行う。一方、AMX 型の ^1H -NMR スペクトルの場合には、直接チャートからケミカルシフトやカップリング定数を読み取ることが可能なため、通常は定規と電卓を使って試行錯誤しながら解析を行ってきた。このような手作業の部分をコンピュータに肩代わりさせて解析の効率化をはかるために、前報では分離して現れる AMX 型 ^1H -NMR スペクトルの 10 重線までのカップリング定数とケミカルシフトを解析するプログラムを報告した¹⁾。

今回は、AMX 型プロトンが 2 つまたは 3 つ重なったスペクトルを解析して個々のプロトンのカップリング定数とケミカルシフトを推定するプログラムを開発した。更に、前

報では、計算時間の関係で10重線までしか解析できなかったプログラムを、短時間で16重線まで解析できるように計算方法を改良した。そして、分離したAMX型を解析するプログラムと、2つ又は3つのプロトンが重なったAMX型のスペクトルを解析するプログラムを、統合して1つのプログラム（プログラム名：AMX）とした。

プログラム言語

FORTRAN77（Absoft 社製，Ver. 4.4）

使用機種

Macintosh PowerPC 7100/AV, 7600/200

計算方法と適用限界

本プログラムでは、AMX型のスペクトルが、スペクトルパターンの中心線に対して対称であることを利用する。実際には、ピークが重なり合って現れているAMX型のスペクトルの中から対称であるピークの組み合わせを全て探し出す。探し出した全ての組み合わせに対してカップリング定数を計算すると、以下の2つの場合に分かれる。

1. カップリング定数が計算できる。
2. カップリング定数が計算できない。

1.の場合の中に、不要なピークが入り込んでいるにも関わらず、カップリング定数が計算できてしまうことがある。また、2の場合には、データに不要なピークが入り込んでいるために計算ができなくなる。そこで、不要なピークを取り除く操作を行い、改めてスペクトルパターンの組み合わせを選び出し、その時のカップリング定数を計算する。

以上の計算で抽出した各プロトンのスペクトルパターンを組み合わせ、そのうち測定されたスペクトルパターンと予め決めておいた誤差範囲内で一致する組み合わせを出力する。

実際には、この過程を全て行なうと長い計算時間が必要なので、この計算過程を一部省略した計算を2つ加えて、以下の3つの計算法が選べるようにした。

1. カップリング定数を計算できないものも含めて選び出した対称ピーク全てを使って、実測ピークと一致する組み合わせを選び出す。ただし、不要ピークを取り除いていない。

2. 選び出した対称ピークのうちカップリング定数が計算できるものだけで、実測ピークに一致する組み合わせを探し出す。ただし、不要ピークを取り除いていない。

3. 全ての計算過程を行なう。計算時間が非常にかかる。

このプログラムは、AMX型のスペクトルが重なり合っているときにのみに使用できるもので、高次のスペクトルパターンを与える ABX,ABC・・・型などに適用できない。

使用法

以下に、スペクトルを解析する手順に従い、このプログラムの使用方法を説明する。イタリック体は機能の説明、アンダーラインの部分はユーザーの入力部分になる。

プログラムを実行すると以下の表示がでる。

```
*****
*      Assisting program for analysis of AMX type      *
*              in H-NMR spectra                          *
*                                                        *
*      Separated Protons          - - - - - 1          *
*      2 or 3 Overlapped Protons  - - - - - 2          *
*              END                - - - - - 3          *
*                                                        *
*              select number 1-3                        *
*****
2

***      2H or 3H Overlapped AMX type      ***
!!!!!!  Number of splitting lines 1 -> 32  !!!!!

      Input file          - - - - - 1

      Calculation         - - - - - 2

              To Main Menu - - - - - 3

              select number 1-3
*****
1
Output file name please
TEST
Spectrometer freq. (in MHz)
```

```

600
  Max J value ( Normal = From 16.0 To 20.0)
16
  Number of overlapped protons (2 or 3)
2
  Number of frequency lines
10
      Input frequency    1(in Hz)
2228.5220
      Intensity
15.4
      Input frequency    2(in Hz)
-
-
-

```

入力が終了すると、次の内容のファイルができる。

```

600.00000    3    .30000  16.00000
10
2207.0960    3.6785    58.4000
2210.5760    3.6843    15.3000
2212.9560    3.6883    19.3000
2216.0690    3.6934    58.6000
2217.5350    3.6959    56.9000
2218.8160    3.6980    11.8000
2220.4650    3.7008     9.6000
2222.8450    3.7047    14.9000
2226.5080    3.7108    49.8000
2228.5220    3.7142    15.4000

```

1 行目：測定周波数(MHz)(600.00000)

重なっているプロトン数 (2 又は 3)(3)

これ以下の吸収線の違いは同一と見做す値(Hz)(.30000)

考慮する最大の J 値(Hz) (16.00000)

2 行目：吸収線の数。(10)

3 行目以降：吸収線の周波数と ppm 換算値と強度(2207.0960 3.6785 58.4000 ---)

上記で作ったファイルを用いた計算は、次ぎのようになる。


```

***      2H or 3H Overlapped AMX type      ***
!!!!!!  Number of splitting lines 1 -> 32  !!!!!

      Input file          - - - - - 1

      Calculation         - - - - - 2

                        To Main Menu - - - - - 3

                        select number 1-3
*****
2
Input file name please
TEST      ----- 計算に必要なデータが書いてあるファイルの名前
      Number of combination ( 1 -> 100 ) ----- 計算結果が幾つの組み合わせま
                                                で出力するか
10
      NOC= 10      ----- 計算結果が10組まで出力
                        ----- 計算結果が10組まで出力,それ以上の組み合わせが
                        あったときには,精度を代えて再計算

      Containig intensity ? [y or n] ----- 計算に吸収強度を考慮するときは,y
Y
Input Half-width ----- 計算に吸収強度を考慮するときのローレンツ曲線の半値幅
      0.2 -> 1.5
      Normal=1.0
1
      Half-width=1.000

Accuracy of calculation ----- ここでは,計算精度を選択する
Low      - - - 1 ----- 対称性だけで,組み合わせを計算。計算時間が短い
Middle   - - - 2 ----- 1の計算結果のうちJ値があるものだけを選択
High     - - - 3 ----- 2の計算で棄却されたデータを更に小さい要素に分解して計算

      Select number 1 -> 3
2
      ----- 1または2を選ぶと太字で表示されたメニューが表示
      3を選ぶと白抜きで書いたのメニューが表示

      Range of splitting numbers ( 1 -> 16 ) ----- この中に含まれるプロトン
                                                の分裂本数の範囲

      Minimum

1
      Maximum

```

16

MIN= 1 -> MAX= 16

----- ここでは、1重線から16重線まで考慮

Reservation of splitting types (1 -> 16) ----- この中に含まれるプロト
ンの分裂本数を3種類指
定できる

Number 1 ----- もし、1種類又は2種類のときは、残りは0を
2 入力する

Number 2

3

Number 3

4

Splitting type = 2 ----- ここでは、2重線と

Splitting type = 3 ----- 3重線と

Splitting type = 4 ----- 4重線を考慮

20 / 98

NO. OF OFF= 2

18

Separation pattern

----- CASE 1 -----

1077.8500(3.991) *

1071.2500(3.967) *

1067.6200(3.954) *

1060.0300(3.925) * *

1054.4200(3.905) *

1047.5000(3.879) *

1041.8900(3.858) *

Input error (Hz) ----- Separation patternで得られた結果を使ってδ値とJ値を計算
normal=1.0

1 ----- 分裂している最初の吸収線と最後の吸収線との差は、この分裂線
のJ値の和と何ヘルツ以内であれば等しいかの値です。通常1を
入力。

270.04000 2 16.00000 1.00000 1.50000

No. 1 proton calculated

.0000 / .1178/ 1.50000

4

7.0950 10.7250

----- 計算されたJ値

1.0 1.0 1.0 1.0

----- その時の各ピークの積分強度比

No. 2 proton calculated

```
.0000 / .0006/ 1.50000
4
      5.6100 12.5300
1.0 1.0 1.0 1.0
```

計算がうまくいくと以下の3つのファイルができる。(＊は、入力したファイル名)

```
*_OUT  ----- 各プロトンへのふりわけパターンの出力
*_MH   -----  Separated AMX パートで計算するための入力ファイル
*_MH.FANL -----  Separated AMX パートで計算した結果の出力
```

*_OUTの内容

```
Input Data
270.04000 7
----- Original Data -----
 1077.8500 3.9914
 1071.2500 3.9670
 1067.6200 3.9536
 1060.0300 3.9255
 1054.4200 3.9047
 1047.5000 3.8791
 1041.8900 3.8583
-----
Separation pattern
----- CASE 1 -----
1077.8500( 3.991) *      +++
1071.2500( 3.967) *      +++++
1067.6200( 3.954) *      +++++
1060.0300( 3.925) *      ++++++++
1054.4200( 3.905) *      +++++
1047.5000( 3.879) *      +++++
1041.8900( 3.858) *      +++
-----
```

内容説明：

Input Data： 入力したデータを表示

Separation pattern： 入力したデータがどのように各プロトンにふり分けられるかの候補を示す。

+の数は、実測チャートのおおよその吸収強度を表す

実際に GalNAc-ol のスペクトルを本プログラムで解析した。分離して現れる H-1, H-2, H-3, H-4, H-5 プロトンについては、前報⁹⁾に準じて解析した。今回、重なり合って現れる H-1', H-6, H-6' プロトンの解析を試みた。表 1 に示した初期解析は本プログラムで解析した結果を、最適計算は初期解析で得られたケミカルシフト値とカップリング定数を用いて LAOCOON III プログラムで最適化した値を示した。GalNAc-ol の場合には、計算精度に High を使わずに Low や Middle を使うと正しい解析結果が得られなかった。また、High を使った計算でもケミカルシフトとカップリング定数の組み合わせの候補を 11 組以下に絞り込むと正しい組み合わせが候補の中からもれてしまった。これは、H-6, H-6' プロトンのケミカルシフト値が近いこと、これらの分裂パターンが AB 型に近くなり誤差の許容範囲を大きくして候補を多くする必要があったためと考えられる。

実際に、重なりあったプロトンの場合には、定規と電卓で NMR チャートを解析する方法に比べて本プログラムを用いて解析する方法は、その労力においてずいぶん軽減されることがわかった。

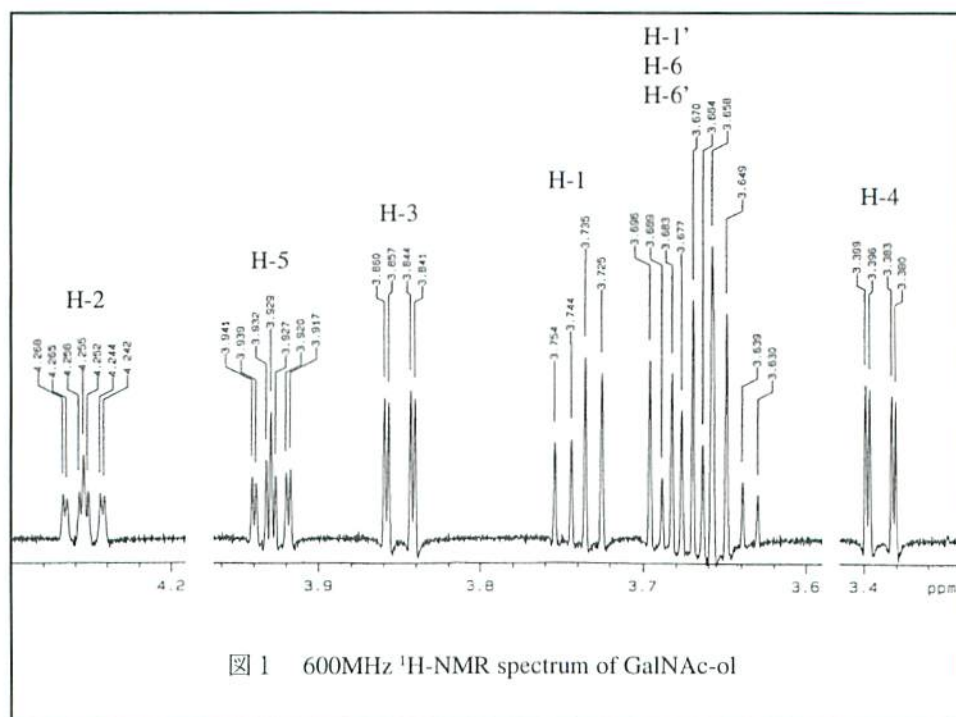


図 1 600MHz ¹H-NMR spectrum of GalNAc-ol

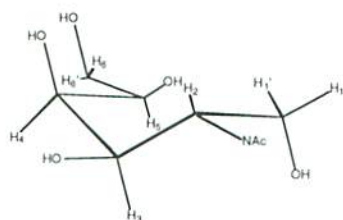


図 2 GalNAc-ol

表 1 GalNAc-olの解析値と文献値の比較

	初期解析値 (AMX 使用)	最適値 (LAOCOON III 使用)	文献値 ²⁾
H-1	3.739	3.738	3.739
J _{1,1'}	11.4	-11.4	-11.4
J _{1,2}	6.0	6.1	6.0
H-1'	3.679	3.682	3.682
J _{1,1'}	11.5	-11.4	-11.4
J _{1,2}	7.9	7.9	7.8
H-2	4.254	4.255	4.252
J _{1,2}	6.1	6.1	6.0
J _{1',2}	7.9	7.9	7.8
J _{2,3}	1.5	1.7	1.6
H-3	3.850	3.850	3.850
J _{2,3}	1.6	1.7	1.6
J _{3,4}	9.6	9.6	9.7
H-4	3.389	3.390	3.390
J _{3,4}	9.6	9.6	9.7
J _{4,5}	1.5	1.7	1.7
H-5	3.929	3.929	3.928
J _{4,5}	1.6	1.7	1.7
J _{5,6}	5.5	5.2	4.9
J _{5,6'}	7.3	7.5	7.1
H-6	3.673	3.670	3.668
J _{6,6'}	11.3	-11.4	-11.5
J _{5,6}	7.0	7.5	7.1
H-6'	3.644	3.648	3.647
J _{6,6'}	11.4	-11.4	-11.5
J _{5,6'}	5.5	5.2	4.9

謝辞

本プログラムの作成にあたり適切なるご助言を賜りました薩摩林貞美教授に感謝の意を表します。

文献

1. 傘 孝之, 日本歯科大学紀要, **28**, 75 (1999).
2. Dua, V. K., Dube, V. E., and Bush, C. A., *Biochem. Biophys. Acta*, **802**, 29(1984); Dua, V. K., Rao, B. N. N., Wu, S.-S., Dube, V. E., and Bush, C. A., *J. Biol. Chem.*, **261**, 1599(1986); Van Halbeek, H., Dorland, L., Vliegthart, J. F. G., Fiat, A.-M., and Jollés, P., *Biochem. Biophys. Acta*, **623**, 295(1980); Van Halbeek, H., Dorland, L., Haverkamp, J., Veldink, G. A., Vliegthart, J. F. G., Fournet, B., Ricart, G., Montreuil, J., Gathmann, W. D., and Aminoff, D., *Eur. J. Biochem.*, **118**, 487(1981); Van Halbeek, H., Vliegthart, J. F. G., Fiat, A.-M., and Jollés, P., *FEBS Lett.*, **187**, 81(1985)

このプログラムおよびプログラムソースは,

ftp://ftp.ndu.ac.jp/pub/chemistry に掲載してあります。